

チョウゲンボウの異なる2亜種における遺伝学的差異の検出

黒尾 正樹^{1, 2}、福士 泰生¹、飯野 雄貴²、奈良 優香²、本村 健³
 1: 弘前大学大学院、2: 弘前大学、3: 中野市教育委員会

表1. 弘前市近郊における巣立ち雛数

西暦	地点	A	B	C	D	E	F	G
2007	○	—	—	—	—	—	—	—
2008	6	2	1	—	—	—	—	—
2009	○	8	○	—	—	—	—	—
2010	3	7	○	—	—	—	—	—
2011	3	7	○	3	—	—	—	—
2012	○	5	○	—	—	—	—	—
2013	6	5	3	2	—	—	—	—
2014	5	5	x	○	—	—	—	—
2015	5	6	x	4	—	—	—	—
2016	3	6	x	2	—	—	—	—
2017	4	4	x	4	—	—	—	—
2018	—	3	7	x	3	—	—	—
2019	5	7	x	2	4	5	—	—
2020	—	7	x	4	—	6	3	—
2021	—	7	x	4	—	5	3	—
小計	43	94	4	34	7	16	6	—
合計				204				

研究の背景

2007年から青森県弘前市近郊でチョウゲンボウが繁殖していることを確認し、どのくらいの個体数が毎年巣立っているのかを調査するのに加えて、繁殖ペアの個体間の関係を7座位のマイクロサテライト・マーカーを用いて解析したところ、弘前市近郊の集団は血縁関係が認められる個体がペアを形成しているケースが少なくなかった。そこで、日本のチョウゲンボウ(*Falco tinnunculus interstinctus*)の遺伝的構造を調べるために、傷病鳥保護施設や動物園等から40羽のチョウゲンボウの羽毛の譲渡を受け、ミトコンドリアの「シトクロームb遺伝子」および「コントロール領域」の全塩基配列(2,554 bp)を決定して、データベース登録されてるチョウゲンボウ(DDBJ/EMBL/GenBank NC_011307; Wu et al., 2007; *Falco tinnunculus tinnunculus* と推定される)と比較した。

材料と方法

収集した羽毛の軸あるいは羽毛全体から多糖類を除去しながらDNAを抽出できるキットの「ISOSPIN Tissue DNA」(ニッポン・ジーン社)を用いて total DNA を抽出・精製した。「シトクロームb 遺伝子」から「コントロール領域」までを増幅するプライマーを作製して、ジェネティック・アナライザーABI3500を用いて、シトクロームb 遺伝子(1,143 bp)およびコントロール領域(1,411 bp, in/delを含む)の全塩基配列を決定した。

結果および考察

得られた40個体およびNC_011307 (Wu et al., 2007)の塩基配列をMEGA7(Kumar et al., 2015)によってアライメントし、塩基置換サイトを検出したところ「シトクロームb 遺伝子」では10箇所、「コントロール領域」では19箇所塩基置換サイトが検出された(表2)。

シトクロームb 遺伝子においては、日本の個体間では644塩基目のみに1個体(高知-1のみ)でアミノ酸の変異をとともなう塩基置換があり、これ以外の塩基置換はサイレントなものであった。ところが、日本の個体とNC_011307(台湾で越冬した *Falco tinnunculus tinnunculus* と推定される)間では、398, 823および871塩基目の3箇所の塩基置換がそれぞれアミノ酸の変異をとともなうものであった。コントロール領域では、1,171塩基目がNC_011307では「C」であるのに対して、日本の個体では例外なく欠失していた。

これらのことから、ユーラシア大陸に生息していた種または亜種から、日本のチョウゲンボウ(*F. t. interstinctus*)の祖先が日本に分布を拡げた初期には、少数の個体が比較的厳しいボトルネックを経験した後現在に到っているため、遺伝的多様性があまり高くないと考えられる(図3および図4)。亜種の境界は主として形態に基づいて決められてきたが、本研究で得られた結果は、分子遺伝学的に亜種の分類を支持する初めてのデータとなると考えられる。

謝辞

以下の皆様にサンプルをご提供頂きました。御礼申し上げます。(五十音順、敬称略)
 いしかわ動物園、沖縄こどもの国、恩賜上野動物園、鹿児島市平川動物公園
 川崎市立夢見が崎動物公園、桐生が岡動物園、小諸市懐古園、埼玉県こども動物自然公園
 市立大町山岳博物館、仙台市八木山動物公園、多摩動物公園、とくしま動物園
 富山県自然博物館・鳥獣保護センター ねいの里、豊橋総合動植物公園
 林 正敏(日本野鳥の会 諏訪支部)、姫路市立動物園、広島市安佐動物公園、放鳥's
 盛岡市動物公園、わんぱーくこうちアニマルランド



図1. チョウゲンボウの巣立ち雛 (弘前市近郊)

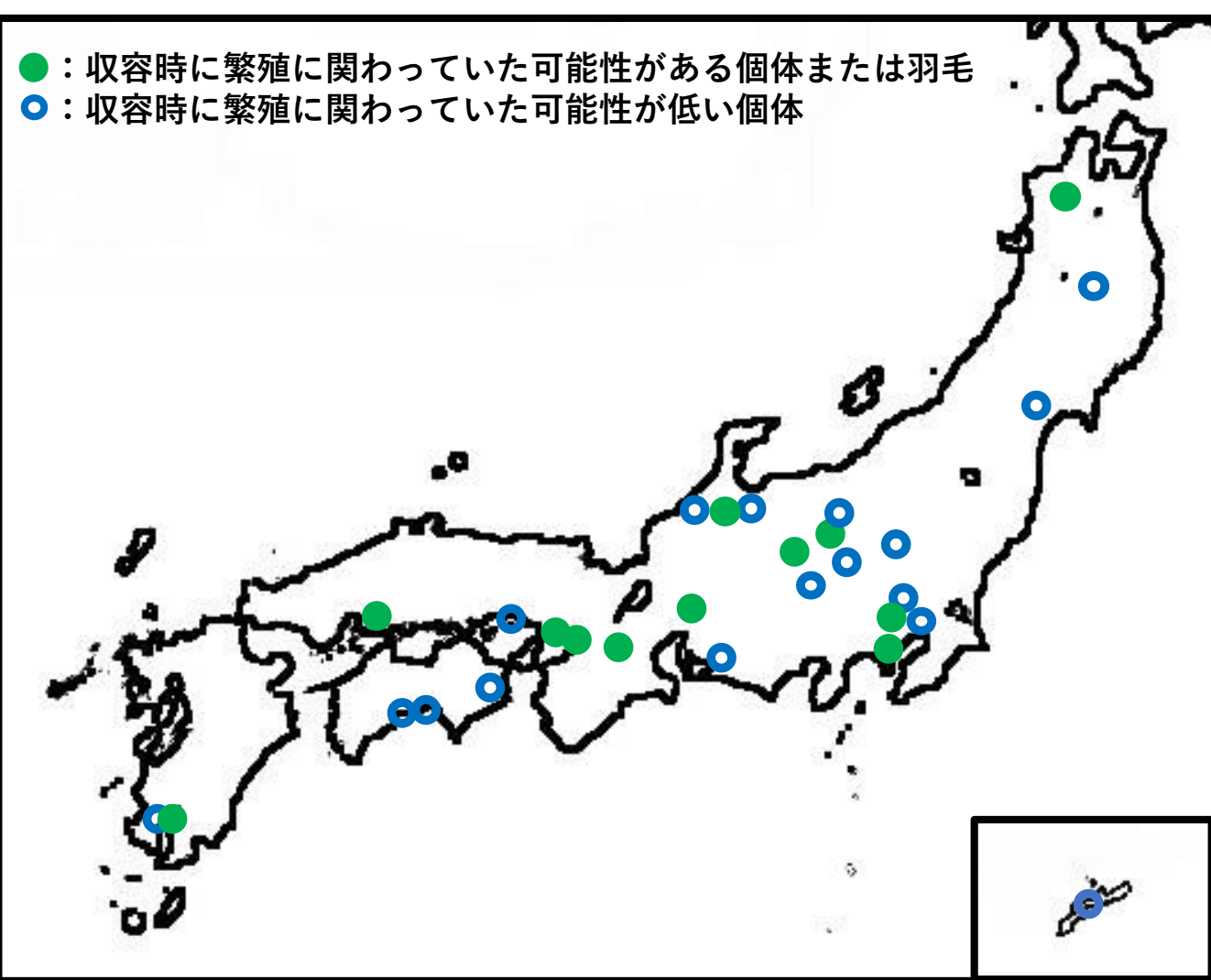


図2. サンプル収集地点

表2. シトクロームbとコントロール領域における塩基置換サイト

塩基番号	シトクロームb										コントロール領域									
	2	3	4	6	8	8	8	9	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
個体コード	2	8	9	7	4	1	2	7	0	8	1	1	1	2	2	3	3	3	3	4
弘前18A♀	A	C	T	T	A	G	T	G	A	T	-	A	C	T	G	T	T	G	T	G
弘前18A♂	-	T	-	C	-	-	-	G	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
弘前18E♀	-	T	-	C	-	-	-	G	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
弘前19B♀	G	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
弘前19B♂	-	T	-	C	-	-	-	G	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
盛岡	G	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
仙台	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	G	-	-	-	-	-	-	-	A
桐生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
さいたま	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
上野	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	C	A	-	-	-	-	-	A
多摩	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
横浜	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
金沢	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
砺波	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
富山	G	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
飯山	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	C	A	-	-	-	-	-	A
中野A♀	-	T	-	C	-	-	-	G	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
中野A♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
中野Y♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
中野Y♂	G	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
中野S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	C	A	A	A
大町♀	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	C	A	-	-	-	-	-	A
大町♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	C	A	-	-	-	-	-	A
佐久	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	C	A	-	-	-	-	-	A
松本	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	C	A	-	-	-	-	-	A
各務原	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
豊川	-	T	-	C	-	-	-	G	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
大阪	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
奈良	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	C	A	-	-	-	-	-	A
加古川-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	T	-	-	-	-	-	-	A
加古川-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
尼崎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
東広島	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
徳島	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
高知-1	-	T	-	C	G	-	-	G	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
高知-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	C	A	A	A
南国	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
鹿児島-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
鹿児島-2	-	T	-	C	-	-	-	G	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
沖縄	-	T	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A
*NC_011307(台湾)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Wu et al., (2008)
 黒字はトランジション、赤字はトランスバージョンを示す。

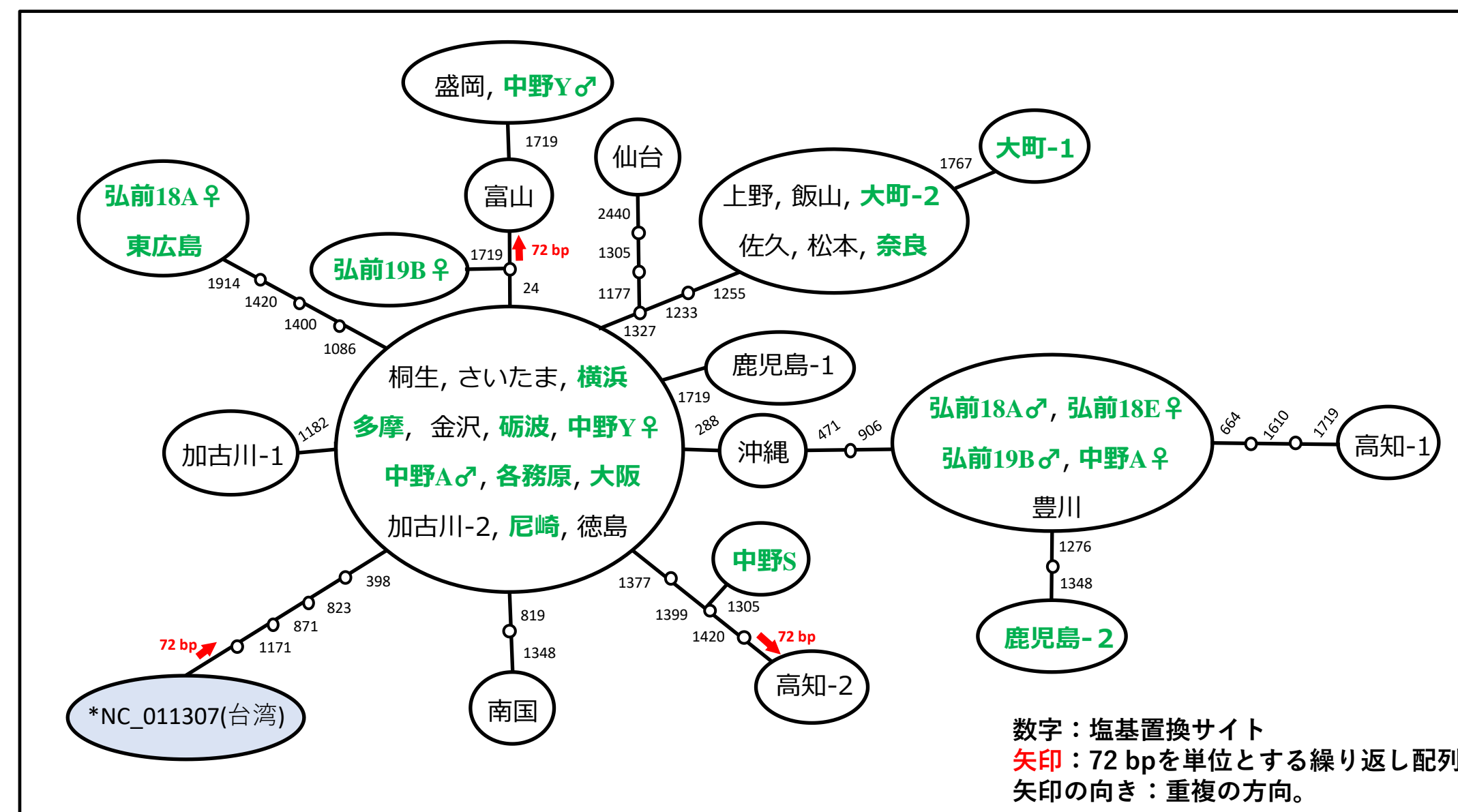


図3. ハプロタイプネットワーク

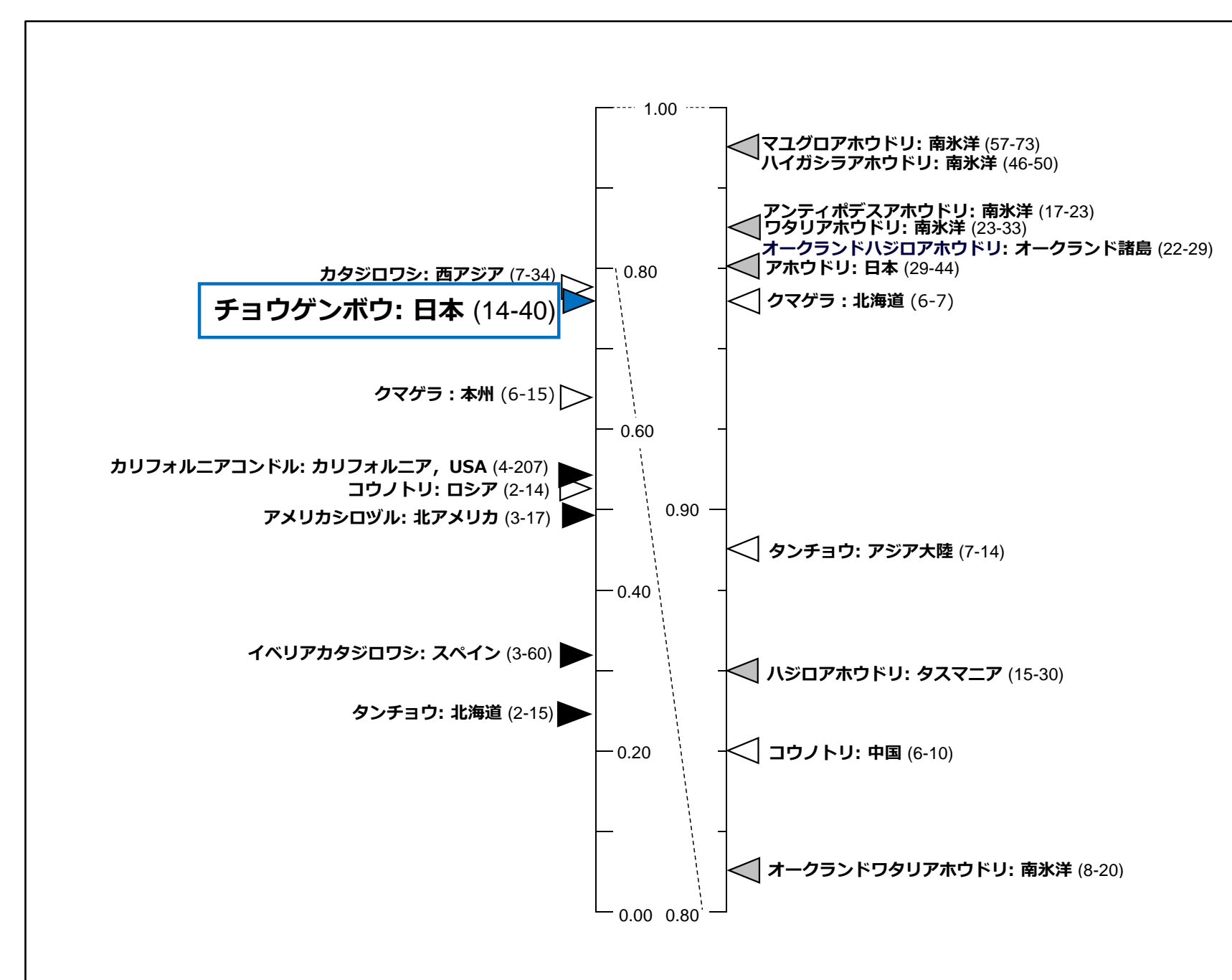


図4. コントロール領域に基づくハプロタイプ多様度 (h)
 $h = (1 - \sum x_i^2) n / (n - 1)$ (Wenink et al., 1993)

チヨウゲンボウの異なる2亜種における 遺伝学的差異の検出

黒尾 正樹^{1, 2}、福士 泰生¹、飯野 雄貴²、奈良 優香²、本村 健³

1: 弘前大学大学院、2: 弘前大学、3: 中野市教育委員会



図1. チョウゲンボウの巣立ち雛（弘前市近郊）

表 1. 弘前市近郊における巣立ち雛数

西 曆 \ 地 点	A	B	C	D	E	F	G
2007	○	—	—	—	—	—	—
2008	6	2	1	—	—	—	—
2009	○	8	○	—	—	—	—
2010	3	7	○	—	—	—	—
2011	3	7	○	3	—	—	—
2012	○	5	○	—	—	—	—
2013	6	5	3	2	—	—	—
2014	5	5	×	○	—	—	—
2015	5	6	×	4	—	—	—
				3			
2016	3	6	×	2	—	—	—
		5		3			
2017	4	4	×	4	—	—	—
2018	3	7	×	3	—	—	—
	—				3		
2019	5	7	×	2	4	5	—
		2					
2020	—	7	×	4	—	6	3
		4					
2021	—	7	×	4	—	5	3
小計	43	94	4	34	7	16	6
合計	204						

研究の背景

2007年から青森県弘前市近郊でチョウゲンボウが繁殖していることを確認し、どのくらいの個体数が毎年巣立っているのかを調査するのに加えて、繁殖ペアの個体間の関係を7座位のマイクロサテライト・マーカーを用いて解析したところ、弘前市近郊の集団は血縁関係が認められる個体がペアを形成しているケースが少なくなかった。そこで、日本のチョウゲンボウ(*Falco tinnunculus interstinctus*)の遺伝的構造を調べるために、傷病鳥保護施設や動物園等から40羽のチョウゲンボウの羽毛の譲渡を受け、ミトコンドリアの「シトクローム *b* 遺伝子」および「コントロール領域」の全塩基配列(2,554 bp)を決定して、データベース登録されてるチョウゲンボウ(DDBJ/EMBL/GenBank NC_011307; Wu et al., 2007; *Falco tinnunculus tinnunculus* と推定される)と比較した。

材料と方法

収集した羽毛の軸あるいは羽毛全体から多糖類を除去しながらDNAを抽出できるキットの「ISOSPIN Tissue DNA」(ニッポン・ジーン社)を用いて total DNAを抽出・精製した。「シトクローム*b* 遺伝子」から「コントロール領域」までを増幅するプライマーを作製して、ジェネティック・アナライザーABI3500を用いて、シトクローム *b* 遺伝子(1,143 bp)およびコントロール領域(1,411 bp, in/delを含む)の全塩基配列を決定した。

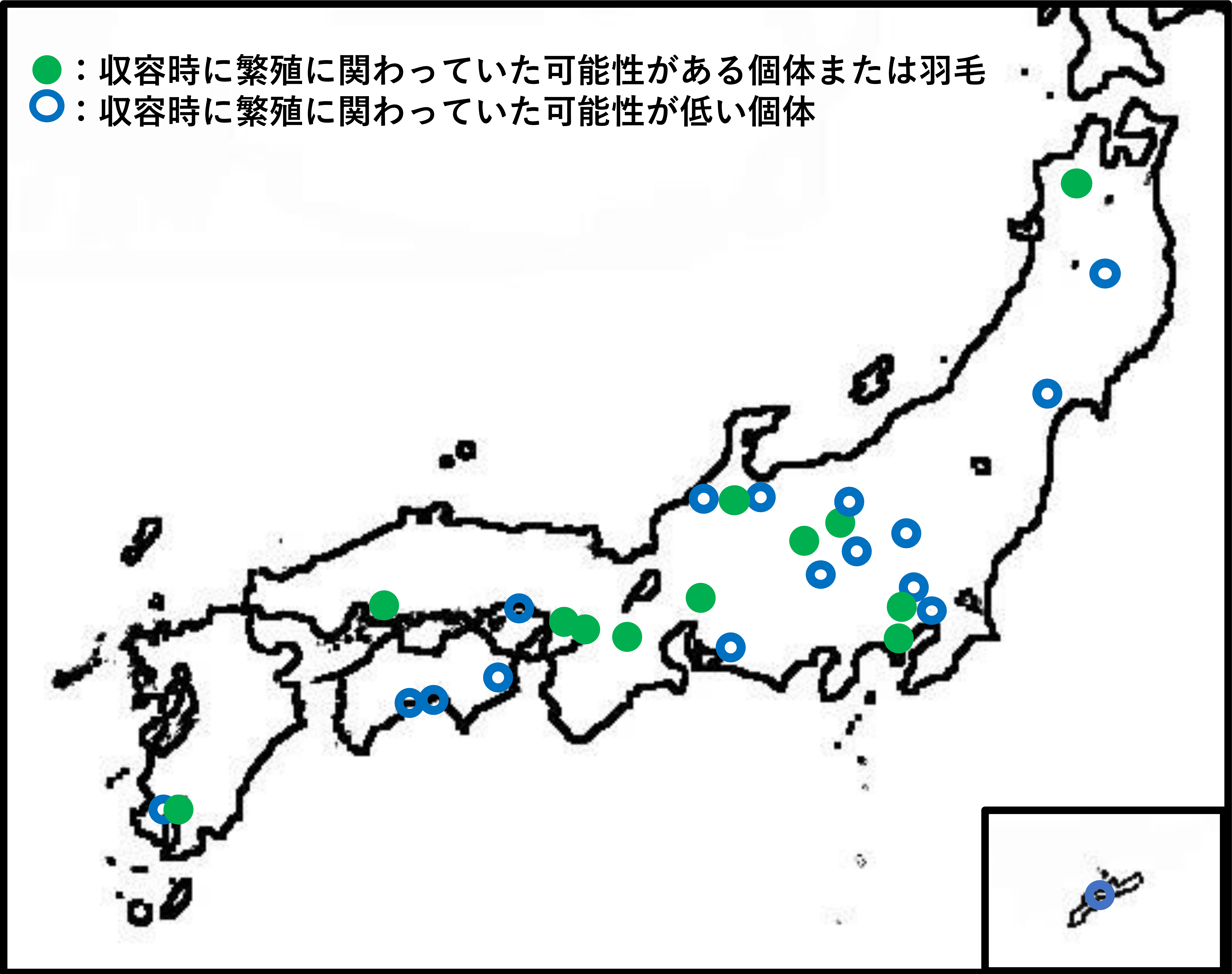


図2. サンプル収集地点

表2. シトクローム *b* とコントロール領域における塩基置換サイト

シトクローム *b*

コントロール領域

塩基番号 個体コード	シトクローム <i>b</i>																		コントロール領域					
	2	3	4	6	8	8	8	9	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
弘前18A♀	A	C	T	T	A	G	T	G	A	T	—	A	C	T	G	T	T	G	T	T	G	G	T	A
弘前18A♂	.	T	.	C	.	.	.	G	C	A	C	.
弘前18E♀	.	T	.	C	.	.	.	G	C	A	C	.
弘前19B♀	G	C	A	C	.
弘前19B♂	.	T	.	C	.	.	.	G	C	A	C	.
盛岡	G	C	A	C	+
仙台	C	.	G	C	A	A	C	.
桐生	C	A	C	.
さいたま	C	A	C	.
上野	C	.	.	.	C	A	.	.	A	A	C	.
多摩	C	A	C	.
横浜	C	A	C	.
金沢	C	A	C	.
砺波	C	A	C	.
富山	G	C	A	C	+
飯山	C	.	.	.	C	A	.	.	A	A	C	.
中野A♀	.	T	.	C	.	.	.	G	C	A	C	.
中野A♂	C	A	C	.
中野Y♀	C	A	C	.
中野Y♂	G	C	A	C	+
中野S	C	C	.	.	C	A	A	A	C	.
大町♀	C	.	.	.	C	A	.	.	A	A	C	.
大町♂	C	.	.	.	C	A	.	.	A	A	C	.
佐久	C	.	.	.	C	A	.	.	A	A	C	.
松本	C	.	.	.	C	A	.	.	A	A	C	.
各務原	C	A	C	.
豊川	.	T	.	C	.	.	.	G	C	A	C	.
大阪	C	A	C	.
奈良	C	.	.	.	C	A	.	.	A	A	C	.
加古川-1	C	.	.	T	A	C	.
加古川-2	C	A	C	.
尼崎	C	A	C	.
東広島	C
徳島	C	A	C	.
高知-1	.	T	.	C	G	.	.	G	C	A	C	.
高知-2	C	C	A	A	.	.	+	.	.
南国	A	.	.	C	C	A	C	.
鹿児島-1	C	A	C	.
鹿児島-2	.	T	.	C	.	.	.	G	C	C	.	.	C	.	.	.	A	C	.
沖縄	.	T	C	A	C	.
*NC_011307(台湾)	.	.	C	G	T	C	C	—	.	.

* Wu *et al.*, (2008)
 黒字はランジション、赤字はトランスバージョンを示す。

結果および考察

得られた40個体およびNC_011307 (Wu *et al.*, 2007)の塩基配列をMEGA7(Kumar *et al.*, 2015)によってアライメントし, 塩基置換サイトを検出したところ「シトクローム *b* 遺伝子」では10箇所, 「コントロール領域」では19箇所で塩基置換サイトが検出された(表2)。

シトクローム *b* 遺伝子においては, 日本の個体間では644塩基目のみに1個体(高知-1のみ)でアミノ酸の変異をともなう塩基置換があり, これ以外の塩基置換はサイレントなものであった。ところが, 日本の個体とNC_011307(台湾で越冬した *Falco tinnunculus tinnunculus* と推定される)間では, 398, 823および871塩基目の3箇所の塩基置換がそれぞれアミノ酸の変異をともなうものであった。コントロール領域では, 1,171塩基目がNC_011307では「C」であるのに対して, 日本の個体では例外なく欠失していた。

これらのことから, ユーラシア大陸に生息していた種または亜種から, 日本のチョウゲンボウ(*F. t. interstinctus*)の祖先が日本に分布を拡げた初期には, 少数の個体が比較的厳しいボトルネックを経験した後現在に到っているため, 遺伝的多様性があまり高くないと考えられる(図3および図4)。亜種の境界は主として形態に基づき決められてきたが, 本研究で得られた結果は, 分子遺伝学的に亜種の分類を支持する初めてのデータとなると考えられる。

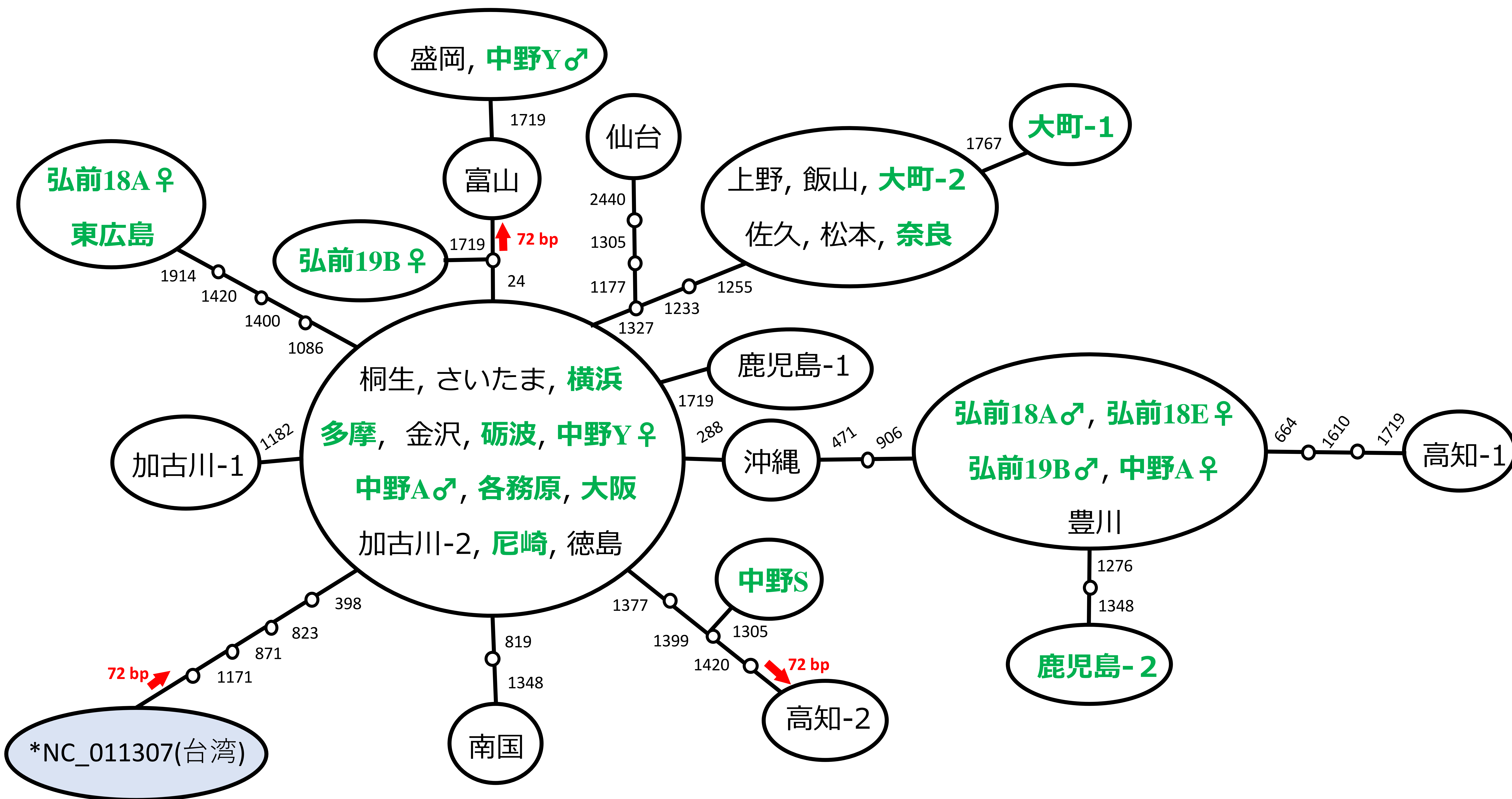


図3. ハプロタイプネットワーク

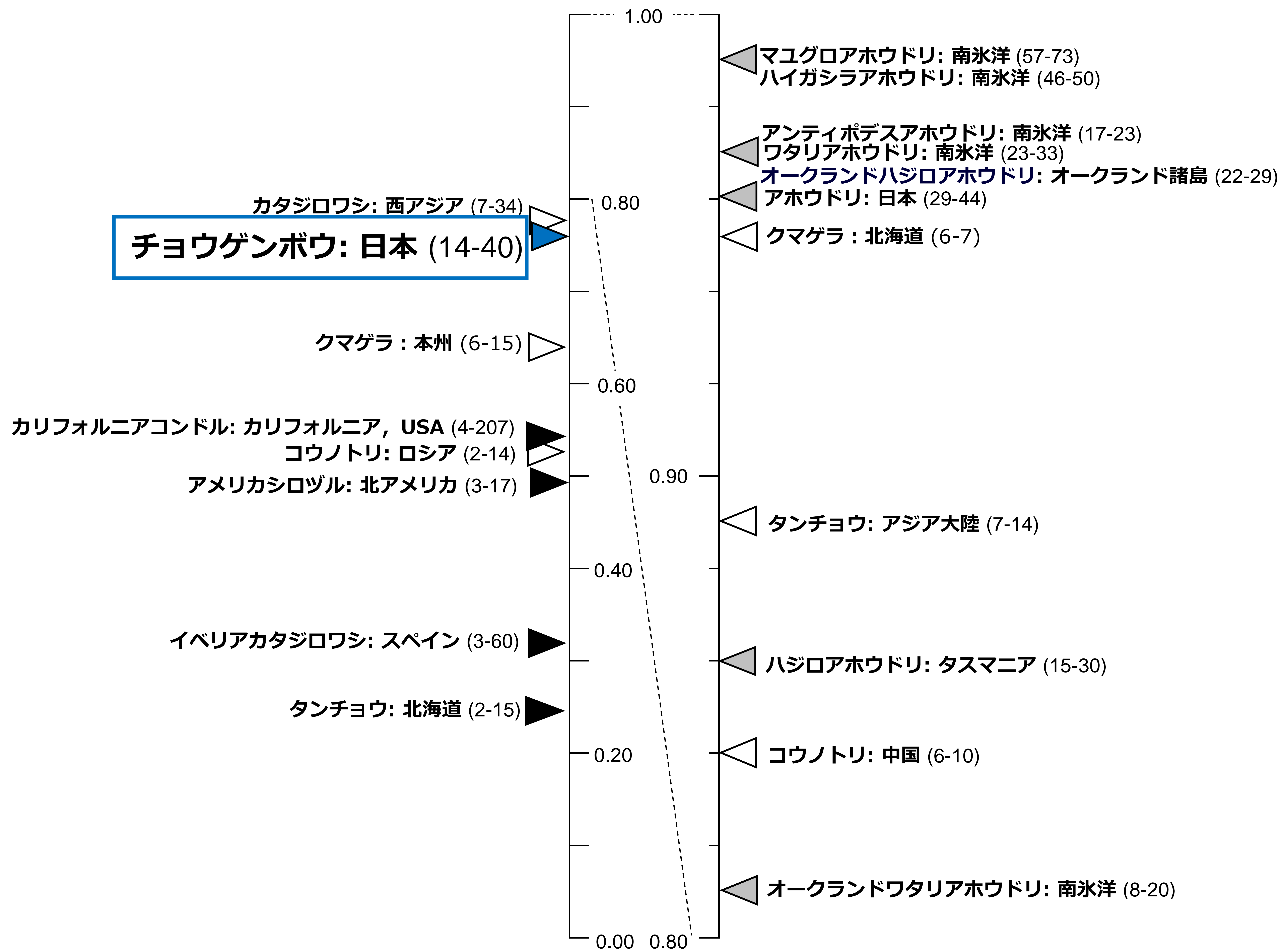


図4. コントロール領域に基づくハプロタイプ多様度 (h)

$$h = (1 - \sum x_i^2)n / (n-1) \text{ (Wenink et al., 1993)}$$

謝辞

以下の皆様にサンプルをご提供頂きました。御礼申し上げます。(五十音順, 敬称略)

いしかわ動物園, 沖縄こどもの国, 恩賜上野動物園, 鹿児島市平川動物公園

川崎市立夢見が崎動物公園, 桐生が岡動物園, 小諸市懐古園, 埼玉県こども動物自然公園

市立大町山岳博物館, 仙台市八木山動物公園, 多摩動物公園, とくしま動物園

富山県自然博物館・鳥獣保護センター ねいの里, 豊橋総合動植物公園

林 正敏(日本野鳥の会 諏訪支部), 姫路市立動物園, 広島市安佐動物公園, 放鳥's

盛岡市動物公園, わんぱーくこうちアニマルランド